

奶牛乳房炎病原菌的分离鉴定

郭日东¹ 吴晓亮¹ 宋丽华¹ 韩吉雨¹ 魏小军¹ 李平安² 关平原² 兰儒冰¹

1. 内蒙古伊利实业集团股份有限公司奶牛科学研究院, 呼和浩特 010080;

2. 内蒙古农业大学, 呼和浩特 010018

摘要 在 1 年的时间里, 对北方的 1 个规模化牧场乳房炎病牛连续采集 45 个样品, 进行分离鉴定, 分离到葡萄球菌、大肠杆菌、克雷伯菌和无乳链球菌 4 种乳房炎病原菌, 在发病时间分布上有明显的特点, 6-10 月期间, 大肠杆菌为乳房炎的主要病原菌, 12 月至次年 4 月期间, 无乳链球菌为乳房炎的主要病原菌。

关键词 奶牛乳房炎; 病原菌; 分离鉴定; 发病特点

奶牛乳房炎是奶牛乳腺受到物理、化学或微生物等因素刺激所引发的一种炎症反应, 其中病原微生物是引起奶牛乳房炎的主要原因。乳房炎可以使患牛奶产量和质量降低, 严重的患牛被淘汰或者直接导致其死亡, 给奶牛业造成巨大经济损失。该病是世界范围内多发的奶牛疾病, 其发生范围广, 发病率高。全球约有奶牛 2.2 亿头, 其中约有 1/3 患有不同类型的乳房炎。据报道, 我国隐性奶牛乳房炎平均发病率为 74.5%, 临床奶牛乳房炎的平均发病率为 33.41%^[1]。

1 材料与方法

1.1 病原菌的采样

选取临床型乳房炎的奶牛采集乳样, 先用温水清洗采样乳头, 再用 0.1% 新洁尔灭溶液和 75% 乙醇分别进行消毒, 在每次清洗或消毒乳头后均用消毒纸巾擦干; 弃去采样乳区的头 3 把奶, 然后采集乳样约 10 mL 于灭菌瓶中, 加盖封紧, 并作好标记, 置于附有冰袋的保温箱内带回实验室进行分离培养及相关检测。

1.2 病原菌分离方法

1) 将无菌采集的乳样充分摇匀, 分别划线接种于普通营养琼脂培养基、鲜血琼脂培养基和麦康凯琼脂培养基, 作好标记, 置 37 °C 温箱中培养 24 h

后观察菌落特征, 挑取典型菌落进行涂片, 革兰氏染色, 于显微镜下观察, 根据菌体形态、溶血情况及染色特性初步判定细菌类别, 并将其进一步纯化培养^[2]。

2) 球菌的鉴定。镜检形态符合葡萄球菌特性, 在普通营养琼脂和血液琼脂平板形成圆形、金黄色、灰白色或柠檬色菌落, 且接触酶试验、凝固酶试验和甘露醇发酵试验阳性的细菌, 即鉴定为金黄色葡萄球菌。镜检形态符合链球菌特性, 且接触酶试验阴性细菌, 即鉴定为链球菌属细菌。若细菌 CAMP 试验阳性, 不水解七叶苷和马尿酸钠, 即鉴定为无乳链球菌^[3]。

3) 杆菌的鉴定。革兰氏阴性杆菌氧化酶试验阴性, 在麦康凯琼脂平板形成红色菌落, 在伊红美蓝琼脂平板形成紫黑色带金属光泽菌落, 在三糖铁琼脂平板培养产酸或产气, 不分解尿素, V-P 试验阴性的细菌即鉴定为大肠杆菌^[3]。

2 结果与分析

1) 分离到葡萄球菌 5 株, 占 11.11%, 大肠杆菌 13 株, 占 28.89%, 克雷伯菌 3 株, 占 6.67%, 无乳链球菌 24 株, 占 53.33%, 与邓海平等^[3]、王凤等^[4]、李娟娟等^[5]、范成英等^[6]报告的乳房炎病原菌种类基本一致。

收稿日期: 2015-05-28

项目基金: 科技部十二五项目“现代奶业发展科技工程”牧区及农牧交错带奶牛健康养殖技术集成及产业化示范(2012BAD12B09)

郭日东, 男, 1963 年生, 高级兽医师。

2)分离鉴定的 4 种病原菌引起乳房炎发病,在时间分布上有明显特点,在 6-10 月期间,大肠杆菌为乳房炎的主要病原菌,12 月至次年 4 月期间,无乳链球菌为乳房炎的主要病原菌。分离病原菌明细如表 1。

表 1 样品分离鉴定结果

检测时间	样品数量 / 株	葡萄球菌 / 株	大肠杆菌 / 株	克雷伯菌 / 株	无乳链球菌 / 株
2014 年 6 月	11	3	8	0	0
2014 年 8 月	9	2	4	2	1
2014 年 10 月	2	0	1	1	0
2014 年 12 月	7	0	0	0	7
2015 年 3 月	6	0	0	0	6
2015 年 4 月	10	0	0	0	10
合计	45	5	13	3	24
百分比 / %		11.11	28.89	6.67	53.33

3 讨 论

1)大肠杆菌、克雷伯菌是环境性乳房炎的主要致病因素。北方 6-10 月期间温暖湿润,牧场奶牛生活环境中存活大量的大肠杆菌和克雷伯菌,是奶牛乳房炎的主要致病菌,也是主要预防和治疗的病原菌种类。

2)葡萄球菌、无乳链球菌是传染性乳房炎的主要致病因素。北方 12 月至次年 4 月期间干燥寒冷,牧场奶牛生活环境中大肠杆菌和克雷伯菌大量减少,致病机会减少,乳房寄生菌是主要致病菌,也是主要预防和治疗的病原菌种类。

3)药敏试验报告指出^[4-7],这 4 种细菌对氧氟沙星、环丙沙星、恩诺沙星、头孢类和磺胺甲恶唑 / 甲氧苄啶敏感,是有效治疗乳房炎的首选药物。

4)在夏秋季节,加强牛体卫生的综合管理,加强奶牛生活环境的综合治理和有效消毒,是预防环境性乳房炎的有效方法。在冬春季节,加强传染性乳房炎病牛的隔离治疗,加强奶衬的清洗消毒,认

真执行挤奶操作程序和乳头药浴,是预防传染性乳房炎的最佳方法。

5)本次试验没有分离到金黄色葡萄球菌,金黄色葡萄球菌导致的乳房炎,传染性很强,易产生耐药性,易复发,一定要彻底隔离治疗。若条件有限,建议淘汰、放弃治疗,坚持这项措施,可以预防金黄色葡萄球菌型乳房炎。

6)在预防奶牛乳房炎的措施中,保护好乳头孔很重要,若乳头孔损坏,不能完全闭合,病原菌很容易侵入乳房导致乳房炎发生;定期进行乳头评分,定期更换奶衬,及时修复挤奶机的负压和脉动频率,不要过度挤奶,可以有效保护乳头孔。

7)应用优质奶牛干奶药可以有效预防乳房炎的发生。

8)加强奶牛饲养管理,完善乳房炎管理措施,培育抗病力强的奶牛品种,均衡奶牛营养,提高奶牛疾病抵抗力,可以有效减少乳房炎的发生。

参 考 文 献

- [1] 郭锐,苑宇.湖北两个奶牛场奶牛乳房炎病原菌的分离鉴定及药物敏感性分析[A].第五届全国牛病防治及产业发展大会论文集[C].2013,150-152.
- [2] 东秀珠,蔡妙英.常见细菌系统鉴定手册[M].北京:北京科学出版社,2001:132-134.
- [3] 魏小娟,蒲万霞,周绪正,等.兰州地区奶牛乳房炎病原菌的分离鉴定及药敏试验[J].动物医学进展,2007,28(8):113-114.
- [4] 邓海平,俞诗源.内蒙古地区奶牛乳房炎病原菌的分离鉴定及药敏试验研究[J].安徽农业科学,2009,37(2):595-596,598.
- [5] 王凤,宋立,汤德元,等.奶牛乳房炎病原菌的分离鉴定、血清型及耐药性研究[J].动物医学进展,2013,34(6):62-67.
- [6] 李娟娟,魏恒,王伟华.奶牛乳房炎病原菌的分离鉴定及药敏试验[J].中国草食动物科学,2013,33(3):53-54.
- [7] 范成英,潘鑫龙.奶牛乳房炎病原菌的分离鉴定及药敏试验[J].安徽农学通报,2013,19(18):119-120.
- [8] 李娟娟,魏恒,王伟华.奶牛乳房炎病原菌的分离鉴定及药敏试验[J].中国草食动物科学,2013,33(3):53-54.